

令和元年5月14日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11681

研究課題名（和文）4NQO誘発ラット舌癌モデルにおけるPD-1/PD-L1経路の解析

研究課題名（英文）The analysis of pd-1/pd-l1 pathway in 4NQO induced rat tongue cancer model

研究代表者

米本 和弘 (yonemoto, kazuhiko)

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80422731

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：がんの治療薬である抗PD-1抗体nivolumabが国内で発売となり、口腔ガンにも適応が拡大されたが、口腔発がんにおけるPD-1/PD-L1経路については依然不明なところもあるため、本研究では、4-ニトロキノリン1-オキサイド（4NQO）誘発ラット舌発癌モデルを用いてPD-L1の異常発現を解析し、口腔発癌モデルとしての有用性を検証することを目的とした。発癌したラット舌の切除検体を用い、PD-L1の発現量を測定したところ、コントロール群にはPD-L1の発現は見られなかったが、舌発癌群において11例中3例において有意なPD-L1の発現が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、4NQO誘発ラット舌癌モデルにおけるPD-L1の発現異常を明らかにした。今研究の結果は、今後更に発展すると思われる免疫療法の分野において、動物モデルで確認することも可能となり、口腔癌治療に有効な口腔発癌抑制物質の新たな開発につながるものと考えられ、意義は非常に高いと考える。

研究成果の概要（英文）： Nivolumab has been sold in japan. Although adaptation to oral cancer has been expanded, PD-1/PD-L1 pathway in oral carcinogenesis was still unknown. We aimed to analyze the abnormal expression of PD-L1 in 4NQO induced rat tongue cancer model. We used resection specimens of rat tongue cancer model and measured the expression level of PD-L1. We demonstrated that the control group was not observed PD-L1 expression, but abnormal expression of PD-L1 in tongue cancer group

研究分野：口腔ガン

キーワード：口腔ガン 4nqo舌癌ラットモデル PD-1/PD-L1経路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

「がん免疫逃避機構」の存在が明らかとなり、その機構の一つであるPD-1/PD-L1経路が今注目されている。2014年9月に悪性黒色腫に対する新しいがんの治療薬である抗PD-1抗体nivolumabが国内で発売開始となり、その後口腔ガンにも適応拡大され、治療効果が期待されるところであるが、口腔発がんにおけるPD-1/PD-L1経路の詳細については依然不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

本研究では、口腔癌動物モデルとして頻用されている4-ニトロキノリン1-オキサイド(4NQO)誘発ラット舌発癌モデルにおけるPD-L1の発現異常について解析し、口腔発癌モデルとしての有用性を検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1. 4-NQO 誘発ラット舌癌モデルの作製

6週齢 F344 ラットを以下のグループに分けた。

- ・グループ1：20ppm 4-NQO 飲水投与群 15匹
- ・グループ2：非処置群(コントロール) 5匹

グループ1は、実験開始より8週間20ppmの4-NQOの飲水投与を行った。4-NQOの飲水開始32週後にラット(15匹)を犠牲死し舌組織を採取、舌組織は2分割し、一方はホルマリン固定(病理組織検索用)し、もう一方は-80℃で凍結保存した。グループ2は、非処置群(5匹)は同様に32週後を犠牲死し、舌組織をグループ1と同様に採取・保存した。

### 2. 病理組織学的検索

ホルマリン固定をおこなった組織はパラフィン包埋し、病理組織学的診断を行い、4-NQO 飲水投与群15匹中11匹において舌癌を認めた。

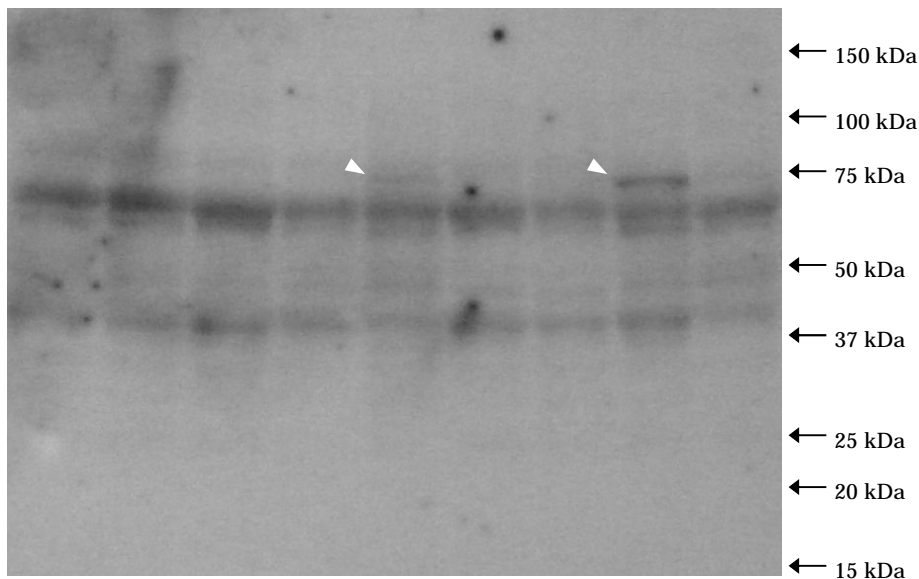
### 3. Western blotting 法による解析

舌癌と診断された11匹よりタンパクを抽出し、Western blotting 法にてPD-L1の検出し、Image Jにて解析し定量化した。

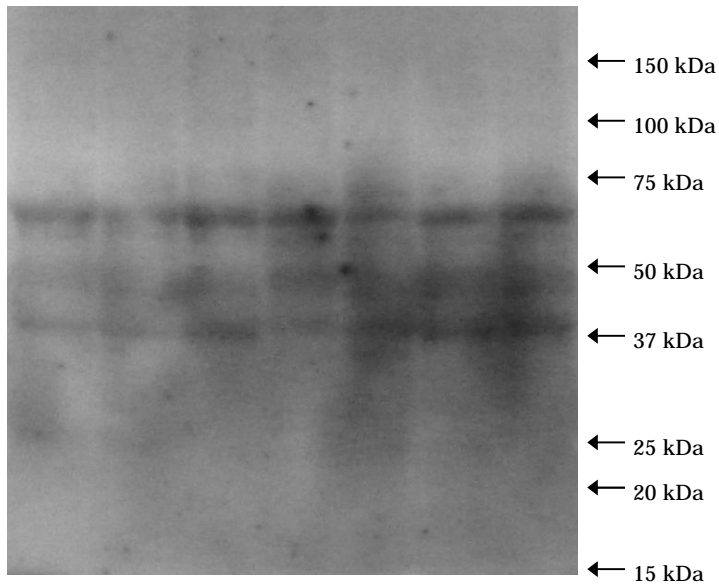
## 4. 研究成果

SDS-PAGE ウェスタンブロット法による染色結果は以下の通りである。

C1      C2      C3      C4      4N-1 4N-2 4N-3 4N-4 4N-5



C5 4N-6 4N-7 4N-8 4N-9 4N-10 4N-11



(C: コントロール群 4N:4NQ0 投与群 白矢印: 65-70 kDa の PD-L1 バンドを示す。)

バンドパターンを ImageJ で解析し、シグナル強度のヒストグラムとした。結果は以下の通りである。

検体名	PD-L1 検出
コントロール-1	検出限界以下
コントロール-2	検出限界以下
コントロール-3	検出限界以下
コントロール-4	検出限界以下
コントロール-5	検出限界以下
4NQ0-1	+
4NQ0-2	検出限界以下
4NQ0-3	検出限界以下
4NQ0-4	+
4NQ0-5	+
4NQ0-6	検出限界以下
4NQ0-7	検出限界以下
4NQ0-8	検出限界以下
4NQ0-9	検出限界以下
4NQ0-10	検出限界以下
4NQ0-11	検出限界以下

コントロール群にはPD-L1の発現は見られなかったが、舌癌群においては11例中3例においてPD-L1の発現を求めた。

今研究において、PD-1/PD-L1経路における4-NQO誘発舌癌ラットの口腔発癌モデルとしての有用性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名：柴田 敏行

ローマ字氏名：Toshiyuki Shibata

所属研究機関名：岐阜大学・大学院医学系研究科

部局名：口腔病態学

職名：教授

研究者番号(8桁)：50226172

##### (2)研究分担者(削除 2018年3月28日)

研究協力者氏名：牧田浩樹

ローマ字氏名：Hiroki Makita

所属研究機関名：岐阜大学・大学院医学系研究科

部局名：口腔病態学

職名：講師

研究者番号(8桁)：50345790

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます